

# 牛頸下腺ムチノより糖ペプチドの単離とその構造研究

著者	尾関 恒雄
号	617
発行年	1970
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/18722">http://hdl.handle.net/10097/18722</a>

氏 名（本籍）	お 尾	せき 関	つね 恒	お 雄
学 位 の 種 類	医	学	博	士
学 位 記 番 号	医	博	第 6 1 7	号
学位授与年月日	昭 和 4 5 年 3 月 2 5 日			
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当			
研究科専門課程	東北大学大学院医学研究科 （博士課程）生理学系専攻			
学位論文題目	牛頸下腺ムチンより糖ペプチドの単離とその 構造研究			

（主 査）

論文審査委員	教授	吉 沢 善 作	教授	菊 地 吾 郎
			教授	立 木 蔚

## 論 文 内 容 要 旨

近年、糖蛋白の構造研究として、糖と蛋白との結合部位の決定が脚光を浴びている。これまで、結合部位の糖ペプチドが単離され、その構造決定がなされたものは、Ovomucoid,  $\alpha_1$ -acid glycoprotein,  $\gamma$ -globulinより得られた、1-L- $\beta$ -aspartamido-N-acetyl- $\beta$ -D-glucosamine である。一方、牛や羊の顎下腺ムチンの糖と蛋白との結合については、アルカリによる $\beta$ -elimination反応の結果から、GalactosamineがSerineまたはThreonineの水酸基を介して、O-glycoside結合を形成すると推定されてきた。しかし、この結合がアルカリ処理に対して不安定なこともあつて、この部分から糖ペプチドを単離する試みは成功していない。

さて、牛顎下腺ムチンは、分子量約40万の糖蛋白で、その約70%は糖、残りは蛋白である。この糖部分は、主としてシアル酸とN-アセチルガラクトサミン(GalNAc)からなるが、少量のガラクトース(Gal), グルコース(Glc), N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)やフコースをも含む。本研究は、このムチン中の糖と蛋白との結合部位の構造を直接的に証明する目的で、ムチンより糖ペプチドを単離し、その構造決定を行つたものである。

まず、Tettamanti等の方法で精製した牛顎下腺のmajor mucinを、希硫酸で処理してシアル酸を除き、続いて、ブローナーゼで徹底的に消化し、消化産物を凍結乾燥した。この物質は、Dowex50によるカラムクロマト法により、8つの画分(a~h)に分かれた。次いで、ブローナーゼ自己消化産物とみなされた画分aを除き、他の7つの画分を高圧ろ紙電気泳動法により再分離し、それぞれ7つの画分( $b_1 \sim 7$ ,  $c_1 \sim 7$ ,  $d_1 \sim 7$ , ...,  $h_1 \sim 7$ )を得た。そのうち、移動度の高い1~6画分はいずれも、pH1.9, pH3.7, pH6.5における高圧ろ紙電気泳動で単一の挙動を示した。更に、これらはペーパークロマト上でも単一のスポットを与えた。これらの糖ペプチドの分析結果から、そのうちの標品 $b_6$ は $[\alpha]_{589}^{16^\circ} + 73^\circ$  (水)を示し、Ser-Ser-GalNAcであること、また $g_5$ はGly-Ser-GalNAcと同定した。更に、 $b_6$ の還元 $\beta$ -eliminationの結果、 $\beta$ -alanineとN-acetyl-galactosaminitolが生成したので、この物質は、Serの水酸基とGalNAcがO-glycoside結合をした糖ペプチドであることがわかった。次に、高圧ろ紙電気泳動ではほとんど泳動しなかつた $b_7 \sim g_7$ を、ペーパークロマト法で多重展開し、それぞれ13画分( $b_{71} \sim 713$ ,  $c_{71} \sim 713$ , ...,  $g_{71} \sim 713$ )を得た。これ等はいずれも、構成アミノ酸としてThr, Ser, Gly, Pro, Glu等を持ち、大部分は、ThrとSerを1:2のモル比で含むTetra-~Hepta-peptideであつた。構成糖成分としては、GalNAcのほか、

GlcNAc, Gal や Glc を含むものも存在した。また、いずれも糖-蛋白結合部位近傍のペプチド鎖には類似性がみられ、たとえば、標品 F<sub>710</sub> は Gly-Thr-Ser-Gly-Ser-GalNAc と推定された。

本研究は、牛顎下腺ムチンより多数の低分子の糖ペプチドを単離し、そのいくつかの構造を決定したものである。これは、従来試みて何人も成功をみなかつた Ser の水酸基と糖との結合部位の単離に成功したものである。

## 審 査 結 果 の 要 旨

糖たんぱくにおいて、糖とたんぱくが如何なる結合形式をとるかはその生体内における存在意義などとの関連からも重要な問題の一つである。この糖とたんぱくとの結合形式の一つとして、たんぱく中のセリンまたはスレオニンの水酸基と糖とのO-グリコシド結合が推定されてきたが、その最小単位の糖ペプチドを単離し、その構造を直接的に証明する試みは未だ何人も成功していない。

著者はこの問題を解決するため、ウシの顎下腺ムチンを用い、まず弱酸処理でシアル酸を除いてから、ブロナーゼで徹底的に消化して糖ペプチドの混合物を得た。このブロナーゼ消化産物をDowex 50カラムクロマト法で分画して、比較的低分子の糖ペプチドを含むと見做された画分を高圧3紙電気泳動法で再分画した。そのうち、移動度の高い画分から二つの糖ペプチドが得られたが、その構造研究から、両者はいずれも2分子のアミノ酸と糖1分子からなること、また、そのセリンの水酸基を介してN-アセチルガラクトサミンがO-グリコシド結合をしていることを明らかにした。一方、上記高圧3紙電気泳動で移動度の低い画分をペーパークロマト法で再分画して多数の糖ペプチドを得、そのうちのいくつかの構造研究を行つた。その結果、それらはいずれもセリン、スレオニン、グリシンを主要アミノ酸として含んでおることや、ペプチド鎖のアミノ酸配列にかなりの規則性があることなどを明らかにした。

以上の結果は、未だ何人も成功をみなかつたセリンの水酸基を介して糖がO-グリコシド結合をした最小単位に近い糖ペプチドを単離し、その構造を明らかにしたほか、アミノ酸数個よりなる糖ペプチドのアミノ酸配列を決定し、その配列にかなりの規則性のあることなどを明らかにしたもので、糖たんぱく化学への貢献は甚だ大である。

よつて本論文は学位を授与するに値する。